

Aus dem II. Anatomischen Institut
der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. med. Willy Schwarz

ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN
AN DER CORNEA DES HAUSHUHNES

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den
Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Burkhard Grell
aus Berlin

1979



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem II. Anatomischen Institut
der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr.med.Willy SCHWARZ

Elektronenmikroskopische Untersuchungen
an der Cornea des Haushuhnes

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Burkhard Grell
aus Berlin

Referent: Prof.Dr.med. W. SCHWARZ

Korreferent: Prof. Dr. med. Hugo Hager



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen
Fachbereiche der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 27.6.72

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

	Seite
Einleitung	1
Material und Methoden	3
Befunde	5
Diskussion	14
Zusammenfassung	16
Literatur	17
Abbildungen	22

Einleitung

Die menschliche Hornhaut besteht aus verschiedenen Schichten: 1. Vorderes Corneaeepithel, 2. Bowman'sche Schicht, 3. Corneastroma, 4. Descemetsche Schicht und 5. Endothel (ROHEN 1964, SCHWARZ 1972). Eine Besonderheit der Cornea ist die Transparenz. Diese Durchsichtigkeit ist schwer zu erklären, weil die Hauptmasse des Corneagewebes aus Bindegewebe besteht, das im allgemeinen undurchsichtig ist. Hier ist das Stroma besonders aufbereitet, es handelt sich um ein modifiziertes Bindegewebe, das durch zwei Eigenschaften - nämlich Festigkeit und Durchsichtigkeit - besonders gekennzeichnet ist (SCHWARZ u. KEYSERLINGK 1966).

Um das Problem der Transparenz besser bearbeiten zu können, ist es notwendig, diese Verhältnisse auch bei anderen Tierklassen zu untersuchen. Hier soll der morphologische Sachverhalt des Corneagewebes bei den Vögeln betrachtet werden. Es existieren darüber nur wenige lichtmikroskopische Arbeiten, wobei die wichtigste bereits im Jahre 1922 erschienen ist (KRAUSE 1922). Dieser Autor hat den mikroskopischen Aufbau der Hornhaut von der Taube (*Columba livia domestica*) beschrieben. Er unterschied vier Corneaschichten:

Das vordere Epithel liegt in vier bis fünf Zellagen vor. Die tiefste Lage ist im Scheitel kubisch, an der Peripherie zylindrisch, die übrigen Zellagen bestehen aus mehr oder weniger platten Zellen. An der Corneoskleralgrenze geht das Pflasterepithel in das geschichtete Zylinderepithel der Conjunctiva bulbi über. Das Stroma oder die Propria, welches die Hauptmasse des Hornhautgewebes ausmacht, besteht aus

parallel verlaufenden Bindegewebslamellen, die sich wiederum aus äußerst feinen kollagenen Fäserchen zusammensetzen. Elastische Fasern treten erst an der Corneoskleralgrenze auf. Zwischen den Hornhautlamellen liegen die sternförmigen Hornhautzellen, mit ihren anastomosierenden Zellausläufern ein die ganze Grundsubstanz durchsetzendes protoplasmatisches Netzwerk bildend. Die descemetische Membran ist im Taubenaugen sehr dünn und tritt erst nach einer Resorcin-Fuchsin-Färbung als feiner blauschwarzer Streifen hervor. An der Corneoskleralgrenze verdichtet sie sich und geht in das Ligamentum pectinatum iridis über. Das hintere Hornhautepithel (Endothel) besteht aus einschichtigen flachen polygonalen Zellplatten, deren Kerne stark in die vordere Augenkammer vorspringen. Die Zellen werden durch schmale Interzellularlücken getrennt und enthalten diese Lücken durchsetzende Epithelfasern (KRAUSE 1922).

Es muß betont werden, daß bei den damaligen lichtmikroskopischen Untersuchungen weder eine Basalmembran des Epithels, noch eine Bowmansche Schicht gesehen wurde. Die im Bereich des Endothels beschriebenen "Epithelfasern" dürften wohl durch Fixation und färberische Behandlung bedingten Artefakten entsprechen, da sie sonst von keinem anderen Autor erwähnt werden. In dieser Arbeit soll nun die Morphologie der Hühnercornea bis in den elektronenmikroskopischen Bereich hinein untersucht werden, mit dem Ziel, das Stroma mit den Verhältnissen beim Menschen, dem meist untersuchten Objekt, zu vergleichen. Auch ist es von Bedeutung, ob die alte Annahme stimmt, daß bei den Vögeln keine Bowmansche Schicht vorhanden ist (ROHEN 1964).

Material und Methoden

Es wurden mehrere Augen 1-jähriger Haushühner (*Gallus gallus forma domestica*) untersucht. Die Augen wurden sofort nach dem Abtöten der Tiere enukleiert und in toto in Karnovski-Lösung fixiert. Danach wurden die Corneae herausgeschnitten und in 1%-iger Osmiumsäure (mit Cacodyllösung gepuffert) nachfixiert. Schmale Streifen der Corneae wurden nun stufenweise in Aceton entwässert und in Mikropal eingebettet. Die Dünnschnitte wurden in einem REICHERT-Ultratom hergestellt. Anschließend erfolgte eine Nachkontrastierung mit Uranylacetat, Bleinitrat und Natriumcitrat nach REYNOLDS. Die Betrachtung der Schnitte und die Anfertigung elektronenmikroskopischer Aufnahmen erfolgte in einem SIEMENS Elmiskop Ia bei einer Strahlspannung von 80 KV.

Die morphometrischen Messungen wurden an Schnitten durchgeführt, die senkrecht zum Verlauf der Fibrillen gelegt waren. Die primäre Vergrößerung der Aufnahmen lag bei 1 : 10000, danach erfolgte eine photographische Nachvergrößerung auf 1 : 3,5. Die Verteilung der Fibrillendicke wurden mit einem LEITZ-Meßokular mit 1/10 mm Einteilung ermittelt. Es wurden 200 streng quer getroffene Fibrillen ausgezählt. Da die Fibrillen parallel zueinander verlaufen, ist das Verhältnis von Kollagenvolumen zum Volumen der Kittsubstanz in Schnitten senkrecht zur Fibrillenlängsachse gleich dem Verhältnis der Fibrillenquerschnitte zum interfibrillären Flächenanteil. Dieses Verhältnis läßt sich mit Hilfe der Punktzählmethode nach WEIBEL (1963) leicht ermitteln. Hierzu wurde die primäre elektronenmikroskopische Aufnahme (Negativ) in ein

Mikrofilm-Lese- und Vergrößerungsgerät (Fa. TAUSCH & SIMON KG: Systematic 3 K) eingelegt und unter Vergrößerung von 1 : 12 auf eine Mattscheibe projiziert. Darüber wurde ein Punktgitter in Form eines Rechteckes mit den Abmessungen 75 x 85 mm mit 112 Punkten nach WEIBEL (1963) geheftet und an verschiedenen Stellen die Anzahl der Punkte bestimmt, die sich auf Fibrillenquerschnitte projizierten. Die Anzahl der so gezählten Punkte zur Anzahl der restlichen Punkte ergibt das Verhältnis des Flächenanteils der Fibrillen zum Flächenanteil der Kittsubstanz und damit das Verhältnis von Kollagenvolumen zum Volumen der Kittsubstanz. Die Werte wurden auf prozentuale Anteile umgerechnet, in eine Summenhäufigkeitskurve übertragen und im Diagramm wiedergegeben. Weiterhin wurde die Länge und Dicke der Epithelzotten, sowie deren Abstand voneinander auf den 1 : 35000 vergrößerten Aufnahmen mittels Meßokular gemessen, ebenso alle anderen Größenangaben ermittelt. Die Ergebnisse entsprechen den jeweiligen Mittelwerten.

Befunde

Das vordere Corneaepithel des Haushuhnes besteht aus 4-5 Lagen übereinandergeschichteter Epithelzellen. Ähnlich wie beim Menschen sind auch hier die basalen Zellen mehr kubisch gestaltet (SCHWARZ 1972). Zur Oberfläche hin findet man polygonale und schließlich platte Zellformen. Die Epithelschicht wird vom Stroma durch eine 0,37 - 0,5 μ dicke Basalmembran klar abgegrenzt (Abb.1). Es handelt sich um eine echte, dem Corneaepithel zugehörige Basalmembran, deren Vorhandensein bei allen Wirbeltieren erst mittels besonderer färbereicher und elektronenmikroskopischer Verfahren erst in jüngerer Zeit bewiesen wurde (VIDAL 1951; TENG u. KATZIN 1953; JAKUS 1954; SHELDON 1956; CALMETTES et al. 1956; GRAUMANN u. ROHEN 1958). Man erkennt ultramikroskopisch zwei Schichten: Eine graue homogene äußere und eine hellere, von feinen Filamenten durchzogene innere Schicht. Nach ROHEN (1964) besteht die äußere Schicht aus osmophilen Substanzen, während die innere durch retikuläre Filamente gebildet wird. Die Basalmembran verläuft relativ gerade und zeigt in bestimmten, fast regelmäßigen Abständen von 0,3 μ kleine Einbuchtungen in die Epithelzellen. Hier liegen die basalen Haftscheiben, sogenannte Desmosomen (ROHEN 1964, SCHWARZ 1972), die die Basalmembran fest mit den Epithelzellen verbindet. Der Interzellularspalt verläuft im Bereich der unteren Zellschicht teils gradlinig, aber auch an manchen Stellen gewunden. Er ist ca. 200 Å breit, erweitert sich gelegentlich innerhalb seines geschlängelten Verlaufes und

mündet auf die Basalmembran (Abb.1). Die entscheidenden Zellen für die Regeneration des Epithels sind die basalen. Sie werden deshalb auch Matrixzellen genannt (BINDER 1951; ROHEN 1964). Beim Menschen sollen sie eine Lebensdauer von 4 Wochen haben (BINDER 1952). Mit Hilfe von radioaktiv markiertem Thymidin hat man nachgewiesen, daß diese Matrixzellen nach der Mitose nur $3 \frac{1}{2}$ - 7 Tage brauchen, um an die Oberfläche des Epithels zu gelangen (HANNA u. O'BRIEN 1960). Die Mitoserate soll von verschiedenen Faktoren (klimatische Verhältnisse, Tag-Nacht-Rythmus, Ernährung, Röntgenstrahlen und Katecholaminausschüttung) abhängig sein (MOVCHAN 1960; TSAVERA 1957;1960; MISHIMA 1957;UTKIN u.MOVCHAN 1963). Die Matrixzellen sind in der elektronenmikroskopischen Aufnahme dunkler, als die oberflächlichen Zellagen. Dies hängt wohl mit ihrer größeren Stoffwechselaktivität zusammen. Sie weisen ein endoplasmatisches Retikulum und interzelluläre Filamente auf, die meist unregelmäßig vorliegen, aber in die Desmosomen einstrahlen. Letztere liegen als linsenförmige homogene Substanz in allen Epithelschichten in den interzellulären Saftspalten. Durch intrazelluläre Filamente und Desmosomen erhält das Epithel seine Festigkeit (SCHWARZ 1972). In den basalen Zellagen kommen noch im Anschnitt elliptisch bis runde Strukturen mit einem Durchmesser bis zu 5μ vor, die von keinem Hüllengewebe umgeben sind. Sie zeigen eine unterschiedlich gekörnte Feinstruktur. Es handelt sich um intraepitheliale Nervenfasern, deren Existenz noch vor rund 15 Jahren hartnäckig bestritten wurde (FORNES-PERIS 1949; MAWAS 1951; ABRAHAM 1955). Die mittleren Epithelschichten bestehen aus vielfältig gestalteten Zellen, deren Membranen stark gewunden und verzahnt verlaufen. Die

interzellulären Spalten erscheinen hier breiter (Abb.2). Die Kerne dieser Zellen sind plump und chromatinreich und durch eine einfache Membran vom Zytoplasma abgegrenzt. BINDER (1951) bezeichnet sie als Substanzzellen, da sie sich nicht mehr wie die basalen Matrixzellen durch Mitose teilen können. In den Zelleibern, nahe bei den Kernen, erkennt man vielfach körnig-vakuolige Strukturen, bei denen es sich um Golgi-Komplexe handelt. Mitochondrien sind seltener nachweisbar. Auch hier findet man wieder intraepitheliale Filamente, die in Haftscheiben einstrahlen. Die oberen Zellagen sind glatter und heller, die Kerne nehmen eine mehr länglich-ovale Form an und sind chromatinärmer. An der Oberfläche tragen diese Zellen feine zytoplasmatische Ausstülpungen von $0,04 - 0,05 \mu$ Dicke und $0,2 \mu$ Länge. Es sind Zotten, deren Abstand voneinander bei $0,05 - 0,1 \mu$ liegt (Abb.3). Diese Mikrovilli sollen für das Haften der cornealen Tränenflüssigkeit von Bedeutung sein (AONO 1961; PEDLER 1962; ROHEN 1964).

Unterhalb der Basalmembran, von dieser deutlich abgegrenzt, beginnt das eigentliche Corneastroma - die Propria. Im elektronenmikroskopischen Bild stellt sich hier eine Schicht von $5 - 15 \mu$ Dicke dar, die etwas heller als das übrige Corneagewebe erscheint. Der Übergang zur Propria ist unregelmäßig und nicht scharf abgrenzbar. In dieser Schicht liegen ebenso wie im Stromabereich Kollagenfibrillen, deren Durchmesser nur wenig um den Mittelwert von $23 \text{ m}\mu$ schwankt. Diese Fibrillen liegen aber ungeordnet in alle Richtungen des Raumes ausstrahlend in ihrer Kittsubstanz und nicht, wie im eigentlichen Stroma in Lamellen geordnet vor. Sie bilden ein regelrechtes Filzwerk. Es sind hier auch keine Zellen oder Zellausläufer nachweisbar.

Lediglich zwischen den Fibrillen kann man reichlich amorphes Material ausmachen. Aufgrund dieses Befundes muß angenommen werden, daß es sich hier um die vordere Grenzschicht oder Bowmansche Schicht handelt (Abb.1). Angeblich existiert sie nur bei höheren Primaten (Hominoidea) und konnte bei den übrigen Wirbeltieren noch nicht nachgewiesen werden (ROHEN 1964). JAKUS (1958) fand allerdings bei ihren Corneauntersuchungen an Affen, Eulen und Knochenfischen ähnliche elektronenmikroskopische Strukturen in der subendothelialen Stromazone. Offenbar ist die Bowmansche Schicht lichtmikroskopisch nicht immer sichtbar. ROHEN (1964) erklärt dies mit den veränderten unterentwickelten Verhältnissen der Kittsubstanz in diesem Bereich. Es kann heute als gesichert gelten, daß die Bowmansche Membran ein modifiziertes Corneastroma darstellt und nicht, wie frühere Autoren (LANDAU 1946) meinten, eine Fortsetzung der conjunctivalen Basalmembran sei (ROHEN 1964). Das Corneastroma ist ein spezialisiertes Bindegewebe (SCHWARZ 1972). Wie jedes andere mesenchymale Gewebe besteht es aus Zellen und Bindegewebsfasern. Durch einige besondere Merkmale, auf die hier speziell eingegangen werden soll, unterscheidet es sich aber wesentlich von jeder anderen Bindegewebsart. Die Hornhautzellen, auch Hornhautkörperchen oder kurz Stromazellen genannt, liegen zwischen den Bindegewebslamellen eingebettet in der Hauptmasse des Corneagewebes (Abb.4). Sie ähneln in ihrer Gestalt sehr stark den Fibroblasten anderer Bindegewebe. Wie schon lichtmikroskopisch festgestellt wurde (KRAUSE 1922), stehen sie mit ihren Zellfortsätzen miteinander in Kontakt und bilden so ein Zellretikulum. In ihrem Protoplasmaleib weisen die Stromazellen verschiedene elektronenmikroskopisch sichtbare Strukturen auf. Man erkennt

hier ein Netzwerk feiner, meist parallel verlaufender Linien, die auch bis in die entferntesten Zellausläufer hineinreichen und eine Art Schlauchsystem bilden. Die Gesamtheit dieses Systems innerhalb einer Zelle wird als endoplasmatisches Retikulum bezeichnet. Weiterhin finden sich im Protoplasma rundliche bis ovale Zellorganellen, die innen septenförmige Strukturen aufweisen - die Mitochondrien. Sie haben als ATP-Lieferanten eine wichtige Rolle im Zellstoffwechsel zu erfüllen. Gelegentlich sieht man auch noch Vakuolen verschiedener Größe. Die Kerne der Stromazellen sind meist langgestreckt und abgeflacht und besitzen in der Regel 1 - 3 Nukleolen.

Der Faseranteil des cornealen Bindegewebes besteht aus zwei Komponenten: kollagenen Fibrillen und einer Kittsubstanz. Die Fibrillen verlaufen parallel geordnet in Bindegewebslamellen (Abb. 4 u.5). Diese sind nicht unbedingt wie beim Menschen parallel zur Corneaoberfläche angeordnet, sondern sie überschneiden und verflechten sich häufig, auch tauschen die Lamellen gegenseitig Fibrillen aus. Meistens überkreuzen sich die Lamellen rechtwinklig. POLAK (1961) und COULOMBRE et al. (1961) beschrieben an Tangentialschnitten beim Huhn und bei Knochenfischen innerhalb oberflächenparalleler Schichten eine Anordnung der Lamellen in Form rechtwinklig kreuzender Netze, deren Achsen von innen nach außen in beiden Augen nach rechts drehen (ROHEN 1964). Die Höhe der Lamellen ist sehr unterschiedlich, sie schwankt zwischen 70 μ und 5 μ . In den Schnitten, die senkrecht zur Längsachse der Fibrillen verlaufen, kann die räumliche Anordnung, die Dicke und der Abstand der Fibrillen voneinander, beobachtet und gemessen werden. Es zeigte sich, daß die Fibrillen einen überraschend konstanten Durchmesser

aufweisen. Die dünnsten Kollagenfibrillen sind 14 μ , die stärksten 31 μ dick. 92 % aller Kollagenfibrillen zeigen einen Durchmesser von 17 - 29 μ , das Häufigkeitsmaximum liegt bei 23 μ (Abb.7). Damit liegt ihr Durchmesser an der unteren Grenze aller bekannten Kollagenfibrillen (SCHWARZ 1972). Sie weisen eine Querperiode von etwa 210 Å auf, die im Verhältnis zu anderen Kollagenen ebenfalls sehr hoch unterteilt ist. Die Packung der Fibrillen innerhalb der Lamellen ist nahezu regelmäßig, ebenso wie ihr Abstand voneinander, der in der Regel 40 μ beträgt. Im Gegensatz zu den Untersuchungen an der Cornea des Hühnchens von JAKUS (1964) konnten hier jedoch auch Bezirke gefunden werden, die eine gewisse Felderung der Fibrillenordnung erkennen lassen. Wahrscheinlich handelt es sich dabei um Fixationsartefakte. Der Volumenprozentgehalt des Kollagens gegenüber dem der Kittsubstanz beträgt 21 - 35 Vol.% mit einem Häufigkeitsmaximum bei 28 Vol.%. Die morphometrischen Messungen wurden, wie unter Material und Methoden angegeben, durchgeführt und die Ergebnisse graphisch dargestellt (Abb.7 u.8). Chemisch ist das Kollagen aus hochmolekularen Peptidketten aufgebaut, die wiederum aus Aminosäuren in spezieller Reihenfolge bestehen. Die Peptidketten sind durch chemische (Disulfid- und Wasserstoffbrücken) und physikalische (elektrovalente Bindungen) Brücken miteinander verbunden. Sie stellen ein Makromolekül in Form einer Doppelspirale (Helix) dar. Der endgültige Bau von Kollagenfibrillen konnte bisher chemisch noch nicht geklärt werden (GRASSMANN 1955).

Ohne eine spezielle Symmetriebetrachtung kann gesagt werden, daß die Fibrillen auch in der Hühnercornea kein kristallines Packungsmuster von

quadratischer, penta- oder hexagonaler Anordnung aufweisen. Sie liegen in einem quasi-regulären (bzw. regelmäßigen), quasi-zufälligen Muster (SCHWARZ 1972). Zwischen den Kollagenfibrillen liegt eine homogene Masse, die zähe Kittsubstanz. Sie besteht aus Proteoglykanen und Glykosaminoglykanen (saure Mukopolysaccharid-Komplexe), deren Hauptfraktionen sich in Keratinsulfat, Chondroitin-4-sulfat und Chondroitin aufgliedern. Diese Verbindungen verfügen über ein großes Wasserbindungsvermögen. Morphologisch sind sie nur mit Hilfe von Rutheniumrot als feine interfibrilläre Brücken darstellbar. Sie sollen für den konstanten Abstand der Fibrillen verantwortlich sein (SCHWARZ 1972). Außer den Kollagenfibrillen kommen im Stroma noch Filamente vor, die zu 50 und mehr Stück gebündelt einen Durchmesser von $0,3 \mu$ erreichen (Abb.5) und sowohl parallel zum Fibrillenverlauf als auch senkrecht dazu die Lamellen durchsetzen. Die Filamentbündel wurden in dieser Art bisher nur an menschlichen Hornhautnarben beschrieben (SCHWARZ u. KEYSERLINGK 1969). Die einzelnen Filamente liegen sehr dicht in diesen Bündeln und haben einen Durchmesser von etwa $8-10 \mu\mu$. Sie besitzen keine Querperiodik. Gelegentlich kommen auch einzelne solcher Filamente zusammen mit amorphem Material vor. Auf die möglichen Zusammenhänge zwischen Fibrillen und Filamenten wird in der Diskussion noch eingegangen werden.

Unterhalb des Stromas, also zwischen diesem und dem Endothel schließt sich eine Schicht an, die lichtmikroskopisch als glasklare homogene Membran imponiert. Sie wird als Lamina limitans posterior oder Descemetsche Schicht bezeichnet und ist bei allen Wirbeltieren vorhanden (ROHEN 1964). Sie ist sowohl gegenüber dem Stroma corneae, als auch gegen das

Endothel scharf abgrenzbar und nimmt hier einen Querschnitt von $0,9 - 1,1 \mu$ ein (Abb.6). Elektronenmikroskopisch erkennt man im Sagitalschnitt eine körnig-fädige Struktur, wobei die dunkleren, fadenähnliche Anteile meist senkrecht zur Längsachse der Descemetschen Schicht verlaufen und fast ausschließlich auf der Stromaseite lokalisiert sind. Hier verdichten sich diese Strukturen deutlich (Abb.6). Der dem Endothel angrenzende Teil der Descemetschen Schicht erscheint heller und auch mehr körniger strukturiert im elektronenmikroskopischen Bild. Dieser Teil verhält sich auch färbend etwas anders, was auf stoffliche Besonderheiten der subendothelialen Grenzschicht schließen läßt (ROHEN 1964). Nach MAZANEK u. HAVELKA (1955) soll in der Innenseite (Endothelseite) der Descemetschen Schicht mehr Lipide, außen (Stromaseite) mehr Proteine angereichert sein.

Die hintere Begrenzung zur vorderen Augenkammer wird vom Endothel gebildet. Es besteht aus einer, höchstens zwei Lagen flacher polygonaler Zellen, die seitlich mit ihren Fortsätzen stark ineinandergreifen. Auf diese Weise entstehen im Sagitalschnitt stark verschlungene und häufig gegabelte interzelluläre Saftspalten, die auf die Descemet-Membran münden, wo sie auch kleinere Hohlräume bilden können (Abb.6). Zur vorderen Augenkammer hin sind die Zellen glatt berandet, nur an den Stellen, wo Interzellularspalten münden, bilden sie kleine zytoplasmatische Wülste, die den interstitiellen Raum nach außen hin abschließen. Sie werden Schlußleisten genannt (SCHWARZ 1972). Intrazelluläre Filamente und Desmosomen finden sich sehr selten. Einige wenige Haftplatten erkennt man an der Stromaseite des Endothels. Die Zellen enthalten eine Vielzahl von Zellorganellen. Besonders häufig,

mehr als in Stroma- und Epithelzellen, sind Mitochondrien zu finden. Daraus kann man auf eine hohe Stoffwechselleistung der Endothelzellen schließen. Weiterhin findet sich ein gut ausgebildetes endoplasmatisches Retikulum, was möglicherweise für die Bildung der Descemetischen Schicht verantwortlich sein könnte. Auch wird den Endothelzellen die Produktion von Sekreten zugesprochen (ROHEN 1964; SCHWARZ 1972). Die Zellen enthalten noch Bläschen von unterschiedlicher Größe, sogenannte pinocytische Vesikel. Sie sollen aktiv - durch Ausschleusung von Wasser - an der Dehydratation des Hornhautparenchyms mitwirken (STAUBESAND 1962; ROHEN 1964). Nach Injektion von kleinen Partikeln in das Corneastroma wandern diese schon nach kurzer Zeit in Richtung vordere Augenkammer durch die Descemetische Schicht und das Endothel hindurch (KAYE et al. 1961). Damit ist nach HONEGGER (1962) anstelle des Begriffs der "osmotischen Pumpe", der der "Stoffwechselpumpe" getreten. Es ist jedoch mit Sicherheit anzunehmen, daß auch durch osmotische Vorgänge Ionen und Stoffwechselmaterial transzellulär befördert werden kann. Dies wird auch verständlich, wenn man bedenkt, daß die Cornea beidseits von hypertonen Lösungen umspült wird (Kammerwasser und Tränenflüssigkeit). Die epithelialen Schichten stellen semipermeable Membranen dar, die einen gerichteten Stoffaustausch aufrechterhalten und dadurch die Hornhautquellung verhindern (COGAN 1953; ROHEN 1964). Die Cornea befindet sich normalerweise in einem Zustand der Dehydratation, der für die Transparenz von ausschlaggebender Bedeutung ist (ROHEN 1964).

Diskussion

Die Cornea des Haushuhnes besteht aus den gleichen Schichten, wie die Hornhaut bei den Säugetieren (Mensch). Das fünfschichtige vordere Corneaepithel hat einen Zottenbesatz (Dicke der einzelnen Zotten: $0,05 \mu$, Länge: $0,2 \mu$). Die Oberfläche des Auges ist damit nicht glatt, wie das in allen Lehrbüchern steht. Die Bedeutung der Epithelzotten liegt vor allem im Festhalten des Tränenfilms. Eine Bowmansche Schicht ist an der Hühnercornea zwar vorhanden, aber so dünn, daß sie lichtmikroskopisch nicht richtig feststellbar ist. Ihr Aufbau ist ähnlich wie an der menschlichen Hornhaut. Das eigentliche Corneastroma besteht wie beim Menschen aus einem spezialisierten Bindegewebe. Die Kollagenfibrillen sind an der Hühnercornea etwas dünner. Sie sind parallel verlaufend in Lamellen gepackt. Die Fibrillenanzordnung ist nicht kristallin, wie das mitunter behauptet wurde (MAURICE 1957). Die Lamellen verlaufen parallel zur Oberfläche und kreuzen sich meistens rechtwinklig. Auffallend ist der reichliche Fibrillenaustausch zwischen benachbarten Lamellen. Die auftretenden, nicht quergestreiften Filamente bestehen aus Kollagen. Wegen ihrer geringen Dicke ($8 - 10 \text{ m}\mu$) zeigen sie keine Querstreifung. Es ist möglich, daß es sich dabei um neu entstehende Fibrillen neuer Lamellen handelt.

Die Hornhautzellen haben ein ausgeprägtes endoplasmatisches Retikulum. Das weist darauf hin, daß sie noch stoffwechselaktiv sind. Diese Aktivität ist in der Synthese von Kollagen und Kittsubstanz zu suchen. Beide Substanzen müssen bis in das hohe Alter synthetisiert werden, da beim sogenannten turn over, diese Stoffe zuerst reduziert und dann ersetzt werden.

Für die Durchsichtigkeit des Stromas ist auch hier die Fibrillendicke mit maßgebend. Sie schwankt sehr gering um einen Wert von 23 μ . Diese Werte erinnern an die Fibrillendicke beim Menschen. Die für die Transparenz immer wieder geforderte kristalline Packung ist, wie auch beim Menschen, hier nicht vorhanden. Doch kann man diese Packung als quasi-regulär und quasi-zufällig bezeichnen. Damit spielt das Packungsmuster auch in diesem Falle eine beträchtliche Rolle. Auffallend ist der verhältnismäßig große Abstand der Fibrillen zueinander (40 μ). Deshalb ist es von besonderem Interesse, nicht das Gewicht des Kollagens, sondern das Volumen des Kollagens in der Cornea zu bestimmen. Es liegt hier durchschnittlich bei 28 Vol. % (Abb.8). Damit ist der Kollagen-Volumengehalt des Corneastromas des Haushuhnes ähnlich wie beim Menschen (15,5 - 20 Vol. %) und unterscheidet sich erheblich vom Kollagen-Volumengehalt nichtdurchsichtiger Bindegewebe (menschl. Sklera: 50,0 Vol. % SCHWARZ u. KEYSERLINGK 1969).

Zusammenfassung

Es wurde der ultramikroskopische Aufbau der Hühnercornea untersucht. Hierzu wurden mehrere Augen 1-jähriger Haushühner sofort nach dem Abtöten der Tiere enukleiert und in Karnovski-Lösung fixiert. Danach wurden die Corneae von den übrigen Augenteilen getrennt, in Osmiumsäure nachfixiert, in der Acetonreihe stufenweise entwässert und in Mikropal eingebettet. Die Mikroschnitte wurden mit einem Reichert-Ultratom hergestellt und nach Reynolds nachkontrastiert. Die elektronenmikroskopischen Aufnahmen wurden in einem Siemens Elmiskop Ia bei einer Strahlspannung von 80 KV angefertigt. Die morphometrischen Messungen erfolgten mit Hilfe der Punktgitter-Zähl-Methode nach WEIBEL (1963) an den Primäraufnahmen. Hierbei ergab sich eine geringe Schwankungsbreite der Fibrillendurchmesser um einen Wert von 23 μ . Der Kollagenvolumengehalt lag durchschnittlich bei 28 Vol.% und damit etwas höher als beim Menschen, jedoch weitaus niedriger als in nichtdurchsichtigen Bindegeweben.

Es konnte festgestellt werden, daß die Hühnercornea die gleiche Feinstruktur zeigt, wie die Hornhaut anderer Wirbeltiere (Mensch). Sie besitzt auch eine Bowmansche Schicht, die aber sehr dünn ist und deshalb lichtmikroskopisch nicht immer nachgewiesen werden konnte. Bisher wurde angenommen, daß nur bei höheren Primaten eine Bowmansche Schicht vorhanden ist. Dies trifft offensichtlich nicht zu.

Als Besonderheit fiel in den oberflächenparallelen Schichten des Corneastromas eine Anordnung der Hornhautlamellen in Form von rechtwinklig sich kreuzenden Netzen auf. Diese besondere Lamellenanordnung konnte bisher nur bei Vögeln und Knochenfischen nachgewiesen werden. Beim Menschen existiert sie nicht.

Literatur

- ABRAHAM, A.: Microscopic innervation of the cornea with reference to the neural connections of the fibrocytes. Acta biol. Acad. Sci. hung. 4, 31-76 (1955)
- AONO, H.: Electron microscopical studies on the cornea. (Part a). On epithelial cell layer. Fol. ophtal. jap. 12, 331-337 (1961 a).
- BINDER, R.: Beitrag zur Kenntnis der Mitosen im Hornhautepithel der Hauskatze. Mikroskopie 6, 308-310 (1951 a).
- Beitrag zur Zellentwicklung im menschlichen Hornhautepithel. Wien. klin. Wschr. 63, 701-703 (1951 b).
- Überlegungen zur Lebensdauer der Zellen im Hornhautepithel. Wien. klin. Wschr. 1952, 978-979.
- CALMETTES, L.; F. DEODATI; H. PLANEL et P. BEC: Étude histologique et histochimique de l'épithélium antérieur de la cornée et de ses basales. Arch. Ophthal. (Paris) 16, 481-506 (1956)
- COGAN, D. G.: Clinical physiology of the cornea. Bull. ophthal. Soc. Egypt. 46, 484-498 (1953)
- COULOMBRE, A. J. and J. L. COULOMBRE: The development of the structural and optical properties of the cornea. In: The structure of the eye, ed. by G. K. SMELSER. New York, Acad. Press 1961 a.
- FORNES-PERIS, E.: La inervación corneal: consideraciones clínicas. Arch. Soc. oftal. hisp.-amer. 9, 237-244 (1949)

GRASSMANN,W.: Unsere heutige Kenntnis des Kollagens.

In: Das Leder 6, 241-261 (1955)

GRAUMANN,W. und J.W.ROHEN: Chemohistologische Befunde
am menschlichen Auge (Cornea, Sklera, Uvea).

Z.mikrosk.anat.Forsch. 64, 652-671 (1958)

HANNA,C.and J.E.O'BRIEN: Cell production and migration
in the layer of cornea. Arch.Ophthal.64,536-
539 (1960)

HONEGGER,H.: Untersuchungen über die lokale Osmotherapie
der Hornhaut. I.Quantitative experimentelle
Untersuchungen über die osmotische Entquellung
der Hornhaut. Klin.Mbl.Augenheilk.141,582-595
(1962 a)

JAKUS,M.A.: Studies on the cornea. I.The fine structure
of the rat cornea. Amer.J.Ophthal. 38,40-53
(1954 a)

-- The fine structure of the cornea. Acta XVII
Conc.Ophthal. 1954 b, 1,461-464 (1955)

-- Studies on the cornea.II. The fine structure
of Descemet's membrane. J.biophys.biochem.
Cytol. 2, 243-252 (1956)

-- The fine structure of certain ocular tissues.
4.Internat.Kongr.f.Elektronenmikroskopie,Berlin
1958, II.S.345-347. Springer-Verl.Bln-Göttingen-
Heidelbg 1958

-- Ocular fine structure. Selected electron micro-
graphs. Little,Brown & Co,Boston, 1964

- KAYE,G.I.;G.D.PAPPAS and A.DONN: An electron microscope study of the rabbit corneal endothelium in relation to its uptake and transport of the colloidal particles. Anat.Rec.139,244-245(1961)
- KRAUSE,R.: Mikroskopische Anatomie der Wirbeltiere.
In: Vögel und Reptilien Bd.II,S.202. W.de Gruyter & Co, Bln u.Leipzig, 1922
- LANDAU,E.: Contribution to the histology of the eye.
Ophthalmologica (Basel) 112,129-134 (1946 a)
- MAURICE,D.M.: The structure and transparency of the cornea. J.Physiol.(Lond.) 136,263-286 (1957)
- MAWAS,J.: L'innervation de la cornée humaine. Bull.Soc. Ophthal.(Paris) 1951 a, 162-170.
- L'innervation de la cornée humaine. Arch.Anat. (Strasbourg) 34,297-304 (1951 c)
- Les nerfs de la cornée humaine étudiés au moyen du chlorure d'or. Bull.Soc.Ophthal.Fr. (Paris) 1951 d, 553-555
- MAZANEK,K. and B.HAVELKA: Príspevek k histochemii rohovky. (A contribution to the histochemistry of the cornea.) Cs.Morfol. 3,157-167 (1955)
- MISHIMA,S.: The sympathetic innervation of the rabbit cornea; the effects of sympathetic denervation and stimulation on the mitotic rate of the epithelium (Japan.text). Acta Soc.ophtal.jap. 61,137-143 (1957)

- MOVCHAN,O.T.: Dynamic of mitotic activity of the cornea epithelium in white mice during fasting. Byull. éksp.Biol.Med. 50,90-93 (1960), Russian
- PEDLER,C.: The fine structure of the cornea epithelium. Exp.Eye Res. 1,286-289 (1962 c)
- POLACK,F.M.: Morphology of the cornea. I.Study with sever stains. Amer.J.Ophthal. 51, part II, 1051-1056 (1961)
- ROHEN,J.W.: Das Auge und seine Hilfsorgane. In: Hdb. d.mikroskop.Anatomie des Menschen Bd.III. IV.Teil, S.335-374. Springer-Verl.Berlin-Göttingen-Heidelberg 1964
- SCHWARZ,W.: Cornea. Vortrag auf der 71.Versammlung d. Dt.Ophthalmolog.Ges. in Heidelberg 1971. 71. Ophthalmologenbericht, im Druck
- u.D.Graf KEYSERLINGK: Über die Feinstruktur der menschlichen Cornea mit besonderer Berücksichtigung des Problems der Transparenz. Z.Zellforsch. 73,540-548 (1966)
- u.D.Graf KEYSERLINGK: Elektronenmikroskopische Untersuchungen an humanen Hornhautnarben und an einem getrübbten Transplantat. Virch.Arch. Ab.A Path.Anat. 347,115-128 (1969)
- SHELDON,H.: An electron microscope study of the epithelium in the normal mature and immature mouse cornea. J.biophys. biochem.Cytol. 2,253-262 (1956)

- STAUBESAND, J.: Pinocytose und Permeabilität markiert durch Gold- und Fe-III-Sole. Verh. Anat. Ges. 57. Vers. Hamburg. Anat. Anz. Suppl. 111, 393 (1962 b)
- TENG, C.C. and H.M. KATZIN: The basement membrane of the corneal epithelium. Amer. J. Ophthal. 36, 895-900 (1953 c)
- TSAVERA, E.S.: Über die Beziehungen der Mitoseaktivität des Corneaepithels zum Zustand des Körpers (russisch). Tr. Stalinsk. Med. Inst. 9, 57-63 (1957)
- The influence of vegetative stimulators on cell division in the epithelium of the cornea. (Russian text). Byull. éksp. Biol. Med. 49, 115-117 (1960)
- UTKIN, J.A. and O.T. MOVCHAN: Mitotic activity of the corneal epithelium of animals kept at various temperatures. Byull. éksp. Biol. Med. 55, 110-113 (1963). Russisch.
- VIDAL, F.: Línea basal del epithelio corneal. Arch. oftal. B. Aires 25, 577-580 (1950); 26, 273-275 (1951 a)
- División histofisiológica de epithelio corneal. Ophthal. ibero-amer. 13, 197-200 (1951 b).
- WEIBEL, E.R.: Morphometry of the human lung. Springer-Verl. Berlin-Göttingen-Heidelberg 1963

Abb. 1

Schnitt durch die Grenze zwischen
Epithel und Bowmanscher Schicht
beim Huhn. Verschlungene Zell-
grenzen mit Desmosomen. Basalmembran.

Vergrößerung 1:35 000

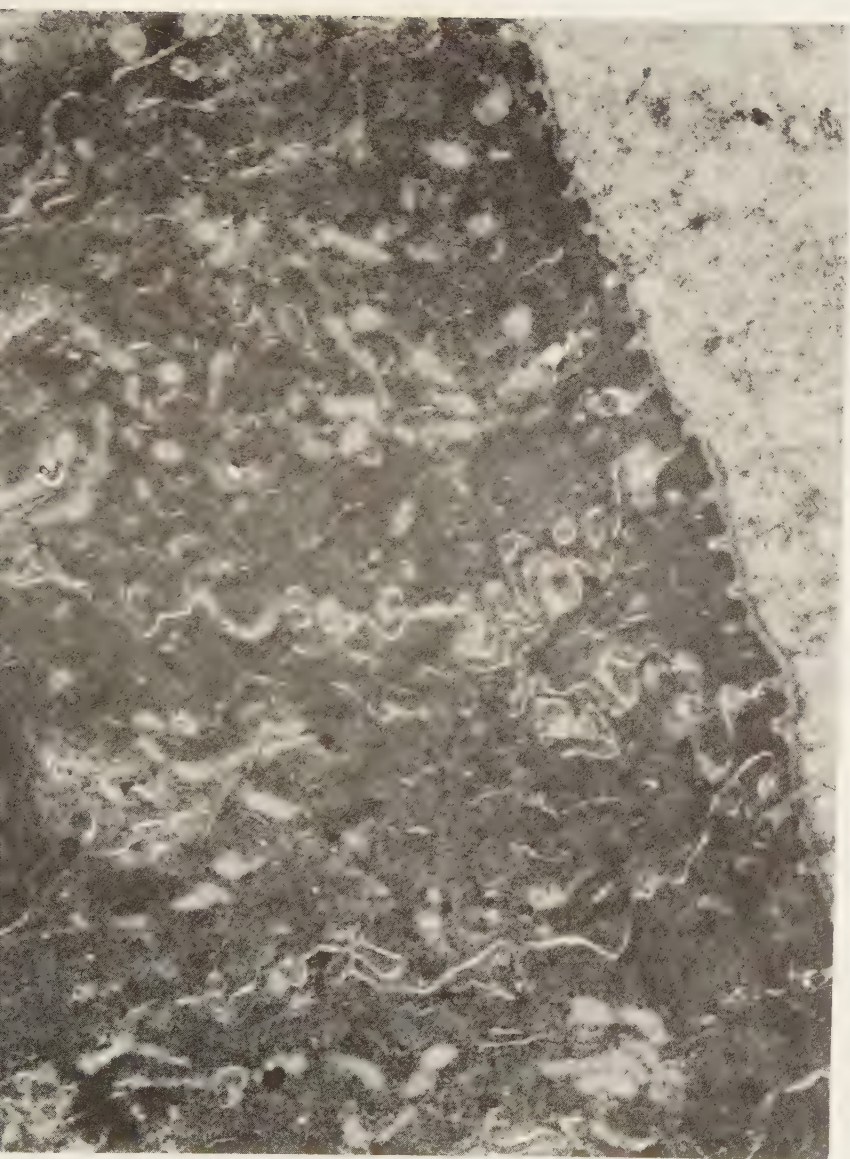


Abb. 2

Cornea vom Haushuhn. Mittlere
Schicht des Corneaepithels.

Vergrößerung 1:35 000



Abb. 3

Cornea vom Haushuhn. Obere Schicht
des Corneaepithels mit Zotten.

Vergrößerung 1:42 000



Abb. 4

Cornea vom Haushuhn. Schnitt
durch das Stroma. Lamellenauf-
bau. Hornhautzelle. Ein Cornea-
nerv ist getroffen.

Vergrößerung 1:35 000



Abb. 5

Cornea vom Haushuhn. Stroma-
lamelle stark vergrößert. Die
Querstreifung der Fibrillen
ist zu erkennen. Bündel von
Filamenten sind quer getroffen.

Vergrößerung 1:70 000

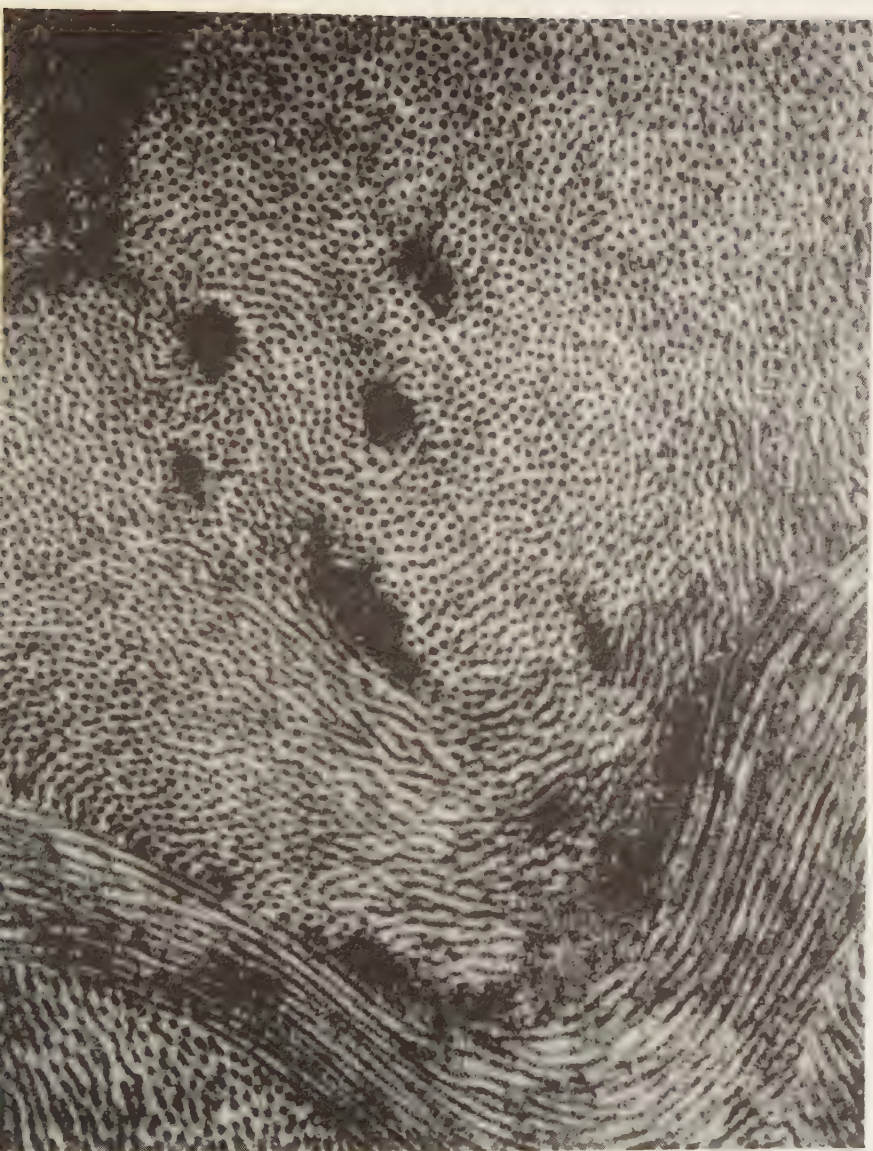


Abb. 6

Cornea vom Haushuhn. Endothel
mit gewundenen Zellgrenzen.
Descemetsche Membran und Stroma.
Vergrößerung 1:35 000



Abb. 7

Verteilungskurve der Fibrillen-
durchmesser an der Cornea des
Haushuhnes.

Fibrillenhäufigkeit

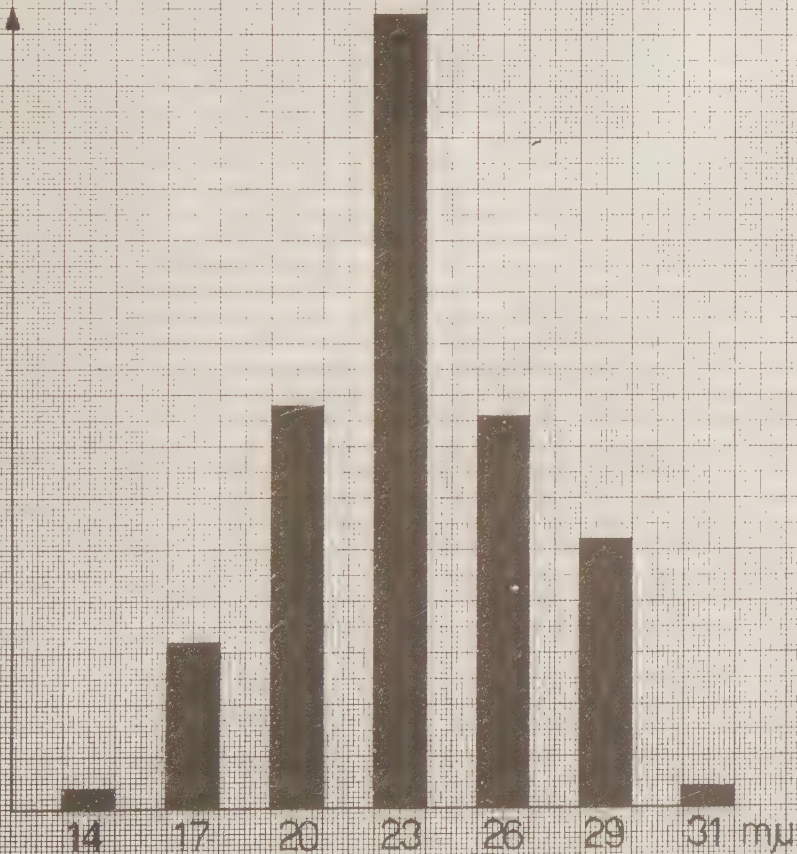
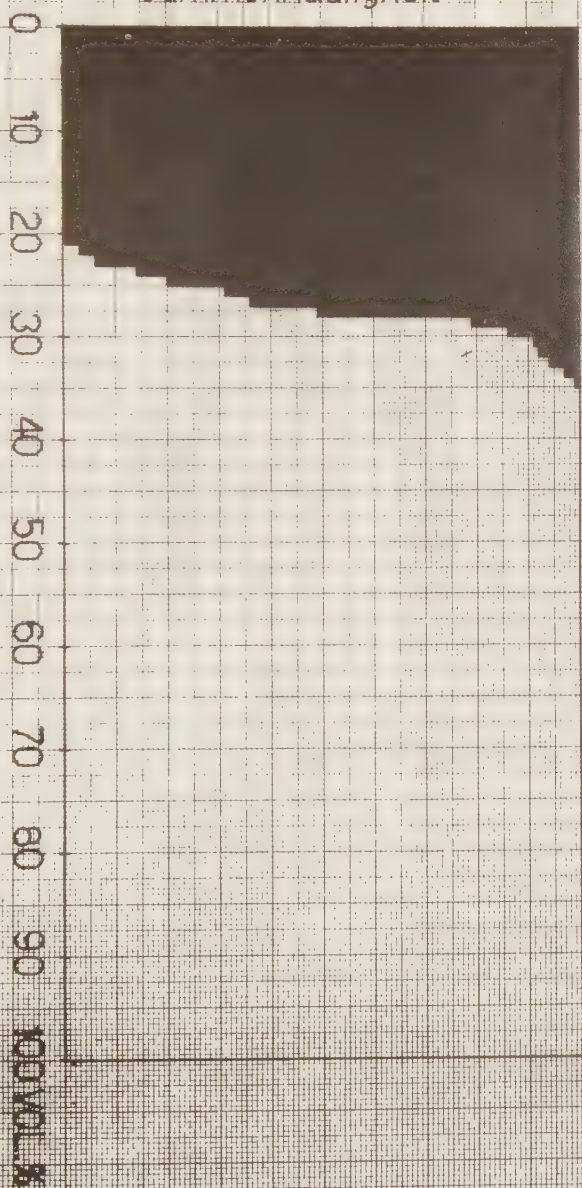


Abb. 8

Darstellung des Volumenprozent-
gehaltes von Kollagen (schwarz)
in der Cornea des Haushuhnes.

Summenhäufigkeit



Dem Direktor des II. Anatomischen Institutes
der Freien Universität Berlin,
Herrn Professor Dr.med.W.SCHWARZ danke ich
für die Überlassung des Themas

"Elektronenmikroskopische Untersuchungen
an der Cornea des Haushuhnes".

Mein Dank gilt ebenfalls Herrn Dr.med.D.
Graf KEYSERLINGK, der mich mit den
Methoden der morphometrischen Messungen
vertraut machte.

Der medizinisch-technischen Assistentin
Frau S.SHUNNAR danke ich herzlich für
die Hilfe bei der Aufbereitung des
Materials.

Lebenslauf

Am 28. Juni 1942 wurde ich als zweites von vier Kindern des praktischen Arztes Dr.med. Hellmut Grell und seiner Ehefrau Margarete, geb.Meyer in Berlin geboren. Von 1948 bis 1956 besuchte ich die Volksschule in Fehrbellin, später bis 1960 die erweiterte polytechnische Oberschule in Rheinsberg/Mark, wo ich auch die Reifeprüfung ablegte. Von 1960 bis 1961 arbeitete ich im Rahmen eines Berufsvorpraktikums als Hilfspfleger und Sektionsgehilfe am Bezirkskrankenhaus Neuruppin. Im Herbst 1961 wurde ich an der Humboldt-Universität zu Ost-Berlin immatrikuliert, wo ich 1962 die naturwissenschaftliche Vorprüfung und 1964 das Physikum bestand. Danach studierte ich noch zwei klinische Semester an der Charité Berlin. Von 1966 bis zum Frühjahr 1969 studierte ich an der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg i.Br. Hier absolvierte ich am 22.Mai 1969 das medizinische Staatsexamen. Während der 1-jährigen Medizinalassistentenzeit arbeitete ich auf der Gynäkologisch-geburtshilflichen Abteilung des Kreiskrankenhauses Waiblingen und auf der Chirurgischen und Inneren Abteilung des Städtischen Humboldt-Krankenhauses Berlin-Reinickendorf. Am 31.August 1970 wurde mir die Approbation als Arzt erteilt. Am 15.September 1970 nahm ich auf der Inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses Spandau Nord eine Stelle an, um mich zum Facharzt für Innere Medizin weiterzubilden. Die Facharztausbildung wird voraussichtlich im Jahre 1976 abgeschlossen sein.

